

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CLÍNICA CIRÚRGICA
DISCIPLINA DE TÉCNICA OPERATÓRIA E CIRURGIA
EXPERIMENTAL

ESTUDO HISTOLÓGICO DO FÍGADO E PÂNCREAS
APÓS COLESTASE POR LIGADURA DO DUCTO
BILIAR DE RATOS WISTAR

ALUNO: CRYSTIAN JOSUÉ THOLL

Projeto de Pesquisa para Obtenção de
uma Bolsa de Iniciação à Pesquisa

ORIENTADOR: GILBERTO DO NASCIMENTO GALEGO, MD, PhD

1997

DISCIPLINA DE TÉCNICA OPERATÓRIA E CIRURGIA
EXPERIMENTAL.

Chefe da Disciplina: Prof. Dr. Newton Macuco Capella.

OK.
Manual de
Omnul. Pesquisa
c2c.ccs
300497-

DISCIPLINA DE HISTOLOGIA DO DEPARTAMENTO DE
MORFOLOGIA.

Prof.:Dr.Ricardo Tramonte

ORIENTADOR:

Prof.:Dr. Gilberto do Nascimento Galego

Autor e Responsável pelo Trabalho:

Crystian Josué Tholl

Aluno do Curso de Graduação em Medicina da U.F.S.C.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	1
JUSTIFICATIVA	2
OBJETIVOS	3
MÉTODOS	4
ANÁLISE DOS RESULTADOS	7
CRONOGRAMA	8
REFERÊNCIAS	9

I. INTRODUÇÃO.

Os aspectos morfológicos do canalículo biliar após ligação do colé - doco tem sido extensivamente estudados tanto em animais como em huma - nos¹¹.

A tendência dos estudos modernos têm se concentrado nas alterações funcionais e na correlação da estrutura com a função⁷.

Uma das mais importantes patologias associadas com a obstrução biliar em humanos é a atresia biliar congênita⁷, essa condição manifesta uma grande proliferação dos ductos biliares, com fibrose e um rápido progresso à cirrose.

Características de síndromes obstrutivas do ducto biliar, incluem colestase e regurgitação de produtos biliares para a corrente sangüínea, devido a mecanismo que intervém, secundário à regurgitação biliar e modificador da permeabilidade do canalículo biliar, promovendo um fluxo contínuo dos produtos biliares para a corrente sangüínea⁸.

Ramificações do ducto biliar são encontradas freqüentemente em áreas periféricas portais em humanos com doença hepática, esta reação proliferativa nos ductos é mais proeminente nos casos de obstrução dos ductos biliares, além da proliferação do epitélio ductal⁹.

É percebido alterações funcionais ocorridas após diferentes intervalos de colestase por obstrução do ducto biliar, com uma provável ou não dete - riorização funcional, alterações essas em particular no volume proporcional de hepatócitos e alterações do epitélio do ducto biliar⁵.

II. JUSTIFICATIVA.

A colestase em nosso tempo ainda tem presença marcante em nosso meio, seja por obstrução do colédoco por cálculo, ou nos casos de atresia biliar congênita, assim temos alterações no epitélio do ducto biliar, passagem de produtos biliares para a corrente sangüínea, cirrose, além das alterações pancreáticas onde os estudos são poucos.

III. OBJETIVOS.

O objetivo deste estudo experimental é avaliar as alterações histológicas ocorridas no fígado e no pâncreas de ratos de linhagem Wistar, após ligadura do ducto biliar.

IV. MÉTODO.

48 ratos de linhagem wistar de mesma idade (em torno de 180 dias), com peso entre 250 e 300g, mantidos em gaiolas de ferro individuais, até o prazo dos procedimentos cirúrgicos e a eutanásia, divididos em 8 grupos de 6 ratos cada. Os animais serão mantidos sob luz natural, em temperatura ambiente e em condições de ruído consideradas como ótimas pelo médico veterinário do Biotério Central, numa temperatura média de 28 graus centí - grados mantida com a ajuda de condicionador de ar, em condições ambientais de ruído, temperatura e umidade, considerados ideais pelo Veterinário do Biotério Central da U.F.S.C..

Os animais receberão alimentação própria para a espécie, com acesso livre a dieta e a água.

Delineamento experimental

Os animais serão identificados através de numeração fornecida pelo veterinário responsável e pesados antes da realização do procedimento cirúrgico.

Semanalmente seis animais serão operados.

Procedimento anestésico

Para a realização do ato cirúrgico, os animais serão submetidos a anestesia geral com solução de Cloridrato Ketamina (KETALAR^R) e Cloridrato de 2-(2,6-xilidino)-5,6-dihidro-4H-1,3- tiazina (ROMPUM^R), nas doses de 90 mg/Kg e 10 mg/Kg respectivamente, administrada por via intra-muscular na face interna da coxa esquerda.

Procedimento cirúrgico

Após atingir plano anestésico, o animal será posicionado em decúbito dorsal horizontal sobre uma prancha de madeira de 30 x 35 cm, fixado pelas patas com fitas adesivas. Em seguida será realizada tricotomia, por arrançamento dos pêlos da parede anterior do abdome e antissepsia com álcool iodado a 2 %. Então será colocado um campo fenestrado (fenestração de 4 cm², que delimitará o campo operatório.

Com tesoura de Metzenbaum será executada uma incisão mediana supraumbilical de aproximadamente 3 cm, interessando a pele, sendo completada a laparotomia com abertura da linha alba e peritônio. Em seguida, será posicionado um afastador auto-estático de Adson para exposição da cavidade peritoneal.

Aproximadamente 1 cm da emergência do ducto biliar será realizada ligadura do mesmo com fio de seda 2-0, em seguida, 5 mm abaixo, nova ligadura com mesmo tipo de fio. O ducto biliar será seccionado entre as duas ligaduras. O fechamento da aponeurose do músculo reto abdominal será realizada por fio absorvível 4-0 (catgut^R) e da pele por inabsorvível, mononylon 4-0.

Dado o prazo de espera após colestase de cada grupo, os animais serão submetidos a procedimento anestésico, re-abertura cavidade e ressecção do pâncrea e do lobo médio do fígado, sendo após fixadas as peças em solução aquosa de formol a 10 %, será enviada ao Laboratório de Anatomia Patológica do Hospital Universitário da UFSC para estudo histológico.

Ao final do procedimento, ainda anestesiados, a eutanásia será realizada por deslocamento cervical.

Estudo histológico

A peça operatória fixada em formol a 10 %, será incluída em blocos de parafina, submetido a cortes seriados de 4 micrômetros de espessura, e corados pelos métodos hematoxilina-eosina (HE) e o tricrômio de Masson.

A análise das lâminas será realizada em microscópio ótico convencional, utilizando-se objetivas com aumento de 40, 100, 200 e 400 vezes.

Será estudado as alterações no epitélio do ducto biliar, fibrose, alterações nos hepatócitos e alterações pancreáticas.

Divisão dos grupos:

- A1 - Animais serão sacrificados após 12 horas de colestase.
- A 2 - Animais serão sacrificados após 24 horas de colestas.
- A 3 - Animais serão sacrificados após 48 horas de colestase.
- A 4 - Animais serão sacrificados após 72 horas de colestase.
- A 5 - Animais serão sacrificados após 96 horas de colestase.
- A 6 - Animais serão sacrificados após 120 horas de colestase.
- A 7 - Animais serão sacrificados após 144 horas de colestase.
- A 8 - Animais serão sacrificados após 168 horas de colestase.

Entidades e órgãos envolvidos

Este projeto faz parte das atividades de pesquisa do Departamento de Clínica Cirúrgica da Universidade Federal de Santa Catarina, com a colaboração dos Departamentos de Microbiologia, da Disciplina de Histologia do Departamento de Morfologia e do Departamento de Anatomia Patológica da mesma entidade.

Recursos materiais

Os recursos materiais necessários para o desenvolvimento do projeto são existentes na própria Universidade Federal de Santa Catarina, sendo listados a seguir:

- a. Animais de Laboratório - Fornecidos pelo Biotério Central da U.F.S.C.
- b. Instrumental Cirúrgico - Disponível no Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental da U.F.S.C. - H.U.
- c. Análise das peças cirúrgicas no Laboratório de Anatomia Patológica da U.F.S.C. - H.U.

Recursos humanos

Todas as atividades previstas no cronograma serão desenvolvidas pelo aluno bolsista sob orientação do professor orientador, com a colaboração do pessoal envolvido nos Departamentos de Microbiologia, Morfologia e Anatomia Patológica, além do corpo docente da disciplina de Técnica Operatória do Departamento de Clínica Cirúrgica.

V. ANÁLISE DOS RESULTADOS.

Após sacrificados os animais serão submetidos à necrópsia, com retirada do lobo médio do fígado e do pâncreas, que serão colocados em solução de formol a 10% para fixação e posterior preparação de lâmina para estudo histológico.

VI. CRONOGRAMA.

1ª fase - De julho a setembro de 1997: levantamento bibliográfico.

2ª fase - De outubro a novembro de 1997: realização da parte experimental do projeto.

3ª fase - De dezembro de 1997 a fevereiro de 1998: análise estatística dos dados.

4ª fase - De março a maio de 1998: confecção e publicação do trabalho escrito.

A parte experimental do trabalho será desenvolvida no laboratório da disciplina de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental, no horário das 8:00 às 12:00 horas, às segundas e quartas-feiras. Este horário poderá ser alterado de acordo com as necessidades e conveniências da referida disciplina.

VII. REFERÊNCIAS

- 1 - ARONSON, D.C., et al, Quantitative aspects of the parenchyma-stroma relationship in experimentally induced cholestasis. *Liver*, 8 (2), 116-26, 1988.
- 2 - CZYGAN, P., GREIM, H., HUTTERER, F., SCHAFFNER, F., POPPER, H, Comparison of two types of intrahepatic jaundice in rats with bile duct ligation. *Acta Hepato Gastroenterol - Stuttg*, 21 (5), 339-45, 1974.
- 3 - DE-VOS, R., et al, Significance of liver canalicular change after experimental bile duct ligation. *Exp-Mol-Pathology*, 23 (1), 12-34, 1975.
- 4 - DESMET, V. J., Morphologic on histochemical aspects of cholestasis. *Prog-Liver Disease*, 4, 97-132, 1972.
- 5 - JOHNSTONE, J. M., LEE, E. G., A quantitative assessment of the structural changes the rat's liver following obstruction of the common bile duct. *Br-J-Exp-Pathology*, 57 (1), 85-94, 1976.
- 6 - LANDMANN, L., Cholestasis - induced alterations of the trans and paracellular path ways in rat hepatocytes. *Histochem-Cell-Biol*, 103 (1), 3-9, 1995.
- 7 - MEDEIROS, M. V., FREITAS, L. A, ANDRADE, Z. A, Differences in hepatic pathology resulting from bile duct obstruction in young and old rats. *Braz-J-Med-Biol-Res*, 8 (2), 116-26, 1988.
- 8 - METZ, J., AOKI, A, MERLO M., FOSSMANN, W. G., Morphological alterations and functional changes of intercellular junctions induced by bile duct ligations. *Cell Tissue-Res*, 182 (3), 299-310, 1977.
- 9 - NAKANO S., HAPATAKE, J., HASHIMOTO, H., Alterations in bile ducts and peribiliary microcirculation in rats after common bile duct ligation. *Hepatology*, 21(5), 1380-6, 1995.
- 10 - TANABE, R., et al, Effects of biliary obstruction on the endocytic activity in hepatocyte and liver sinusoidal andothelial cells in rats. *Eur-Surj-Res*, 28 (3), 201-11, 1996.

- 11 - VITAL, A, BIOULAC, S. P., IRON, A, BALABAUD, C., Morphologic structure of bile canaliculi after bile duct ligation in the rat. *Arch-Pathol-Lab-Med*, 106 (9), 464-7, 1982.
- 12 - VITALE, G. C., SIOW, Y., BAKER, P.R., CUSCHIRI, A, Reversible bile acid changes in bile duct obstruction and its potential for hepatocellular injury. *J-Hepatol*, 14 (2-3), 151-6, 1992.
- 13 - YAMAUCHI, H., KOYAMA, K., OTOWA, T., OUCHI, K., ANEZA, K., SATO, T., Morphometric studies on the rat liver in biliary obstruction. *Tohoku-J-Exp-Med*, 119 (1), 9-25, 1976.

**TCC
UFSC
CC
0236**

N.Cham. TCC UFSC CC 0236

Autor: Tholl, Crystian Jo

Título: Estudo histológico do fígado e p



972807853

Ac. 253058

Ex.1

Ex.1 UFSC BSCCSM